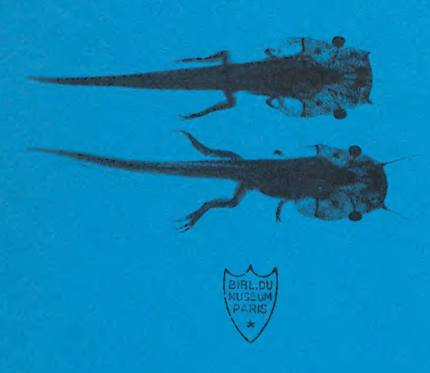
ISSN 0753-4973

ALYTES



Juin 1988

Volume 7, N° 2

SOCIÉTÉ BATRACHOLOGIQUE DE FRANCE
(Société pour l'Étude et la Protection des Amphibiens)

SIÈGE SOCIAL

Laboratoire des Reptiles et Amphibiens, Muséum national d'Histoire naturelle,
25 rue Cuvier, 75005 Paris, France.

CONSEIL D'ADMINISTRATION POUR 1988

Président : Jean-Jacques MORÈRE.
Vice-Présidents : Jean-Louis AMIET, Jean COLLEAU.
Secrétaire général (renseignements et demandes d'adhésion) : Alain DUBOIS.
Trésorière : Dominique PAYEN.
Membres : Alain COLLENOT, Edouard LEMÉE, Luck MARTIN-BOUYER, Manuel POLLS PELAZ et Jean-Paul RISCH.

ADHÉSION

La S.B.F. est ouverte à toute personne française ou étrangère intéressée par l'étude et la protection des Amphibiens ; écrire au Secrétaire général. La cotisation inclut le service du Bulletin d'information *Circalytes*.

TARIFS 1988

	Lieu de résidence	
	France	Etranger
Membres de la S.B.F. :		
Cotisation seule	100 F	100 F
Cotisation + abonnement à *Alytes*	170 F	180 F
Cotisation membre associé (conjoint, etc.)	40 F	40 F
Abonnement à *Alytes* pour les non-membres :		
Individus	100 F	130 F
Institutions	200 F	260 F
Supplément pour expédition d'*Alytes* par avion (membres et non-membres)	–	50 F

Achats au numéro et rachats d'anciennes séries d'*Alytes* : écrire au Sécrétaire général pour information.

MODALITÉS DE RÈGLEMENT

FRANCE. – Par chèque postal ou bancaire à l'ordre de "Société Batrachologique de France", adressé à notre Trésorière, ou par virement postal sur notre C.C.P. : "Société Batrachologique de France", C.C.P. 7976 90 K, Paris.

EUROPE. – Exclusivement par virement postal ou mandat postal, libellé en Francs Français et adressé à notre Compte Chèques Postal : "Société Batrachologique de France", C.C.P. 7976 90 K, Paris.

OUTSIDE EUROPE. – Please write to our General Secretary for information.

ALYTES

INTERNATIONAL JOURNAL OF BATRACHOLOGY

Juin 1988 **Volume 7, N° 2**

Alytes, 1988, 7 (2): 45-51.

Abnormal joints (*abj*), une nouvelle mutation affectant les membres des têtards de *Xenopus laevis*

Anne DROIN

Station de Zoologie expérimentale,
Université de Genève,
154, route de Malagnou,
1224 Chêne-Bougeries, Suisse

Abnormal joints (abj) is a recessive lethal mutation affecting the limbs of the tadpoles of *Xenopus laevis*. It has been found in a family, the father of which was a male homozygous for the *periodic albino* mutation (a^P/a^P). The two genes, *abj* and a^P segregate independently. Matings effected between heterozygous individuals for *abj* and for the other two mutations affecting also the limbs, *polydactyly (pd)* and *abnormal limb (abl)* have shown that these three genes are not allelic.

The mutants' limbs are normally developed but abnormally oriented. The four limbs are affected but the posterior ones are more easily observed. In the majority of cases, the stylopodium is forming a right angle with the tail axis and a second one with the zeugopodium; there is no flexion between the zeugopodium and the autopodium. Sections of the pelvic girdle have shown that the insertion of the femur in the acetabulum is abnormal. One concludes provisionally that the deficiency may originate in the joints. The general development of the mutants is slower than that of the normal tadpoles; they all die during metamorphosis.

INTRODUCTION

Les mutations affectant les membres ne sont pas très fréquentes chez les Amphibiens en comparaison de toutes celles qui sont connues chez d'autres Vertébrés de laboratoire, notamment la poule (revue par ABBOT & WENDELL YEE, 1975) et la souris (revue par GREEN, 1975).

Chez les Urodèles, les mutations de l'Axolotl sont nombreuses (revue par ARMSTRONG, 1985) mais deux seulement affectent les pattes, *short toes* (HUMPHREY, 1967) et *hand lethal*





(Humphrey & Chung, 1977). En outre, Lauthier (1971) a analysé les anomalies spontanées des membres postérieurs de Pleurodèles descendant d'une seule lignée et leur attribue une origine génétique probable.

Chez les Anoures, particulièrement chez *Rana*, ce sont les mutants de pigmentation qui ont été les plus étudiés (revues par Browder, 1975 pour *Rana pipiens* et par Dubois, 1979, pour les Grenouilles vertes du groupe *Rana* kl. *esculenta*). Dans ce dernier groupe, Dubois (1979) décrit plusieurs anomalies non héréditaires des membres dont l'anomalie P analysée par Rostand (1959).

Chez *Xenopus laevis*, parmi les mutations trouvées dans notre laboratoire, deux d'entre elles affectent les pattes, les mutations *polydactyly* (*pd*, Uehlinger, 1969) et *abnormal limb* (*abl*, Droin & Fischberg, 1980). Une troisième mutation a été découverte récemment qui provoque également une anomalie des membres des têtards mais dont le phénotype est différent des deux autres. C'est la mutation *abnormal joints*, récessive létale, dont le mode de transmission est décrit dans ce travail ainsi que le phénotype des têtards mutants.

Matériel et méthodes

Des individus adultes, élevés en laboratoire, de la sous-espèce *Xenopus laevis laevis*, de type sauvage et albinos (Hoperskaya, 1975) sont à l'origine de cette analyse. L'accouplement, la ponte, le tri des oeufs et l'élevage des têtards ont été effectués selon l'usage dans notre laboratoire (Droin & Chavane, 1976) et les stades de développement déterminés d'après la table de Nieuwkoop & Faber (1956). La technique de coloration et d'éclaircissement au Bleu Victoria (Mahoney, 1966) a été employée pour la mise en évidence des cartilages. Pour l'histologie générale, les têtards ont été fixés au Bouin et colorés à l'hémalun-éosine.

Résultats

Génétique

Les têtards homozygotes mutants ont été trouvés dans la F2 d'une famille dont la mère était de type sauvage (+/+) et le père homozygote pour la mutation *periodic albinism* (a^p/a^p). Six individus hétérozygotes ont été identifiés dans la F1 et quatre dans la F2. Il n'a pas été possible de faire les croisements de retour entre les hétérozygotes de la F1 et leurs parents pour déterminer lequel des deux a introduit la mutation car ils étaient déjà morts lors de l'identification des mutants. On peut supposer cependant que la mutation vient du père albinos car de nombreux croisements avaient déjà été faits dans la famille de la mère sans que la mutation n'apparût.

Les croisements effectués entre les individus des F1 et F2 sont résumés dans le Tableau I (première série). 156 têtards homozygotes ont été obtenus sur un total de 707 têtards examinés provenant de sept croisements différents, soit 22,1%, un pourcentage mendélien récessif typique.

En outre, les croisements des individus de la F1, tous hétérozygotes pour le gène a^p, donnent régulièrement un quart de têtards homozygotes albinos. Ces derniers n'ont pas tou-

Tableau I. – Génétique de la mutation *abnormal joints* chez *Xenopus laevis*.

Série	Génotypes croisés	Nombre de croisements	Nombre de têtards					
			Total	Phénotypes				
				Normal	abj	a^p	abj a^p	% et χ^2
I	*+/+ × abj/+*	3	227	227	—			—
	abj/+ × abj/+	7	707	551	156			22,1 % (χ^2=3,41 ; P<0,05)
II	*abj/+ a^p/+ × abj/+ a^p/+*	3	259	156	47	42	14	χ^2 = 1,99 (P < 0,5)
III	*pd/+ × abj/+*	1	91	91	—			—
	abl/+ × abj/+	1	87	87	—			—

jours été conservés. Dans trois croisements, ils ont été élevés conjointement avec les autres têtards et dans ces cas, les ségrégations obtenues montrent que ces deux gènes, *abj* et *ap*, sont indépendants (ségrégation 9-3-3-1, Tableau I, deuxième série).

Finalement, deux croisements ont été effectués entre des animaux hétérozygotes pour les mutations *pd* (*pd/+*) et *abl* (*abl/+*) et hétérozygotes pour *abj* (*abj/+*). Ils n'ont donné aucun têtard mutant sur un total de respectivement 91 et 87 têtards, ce qui permet de conclure que ces trois gènes ne sont pas alléliques (Tableau I, troisième série).

DESCRIPTION DU PHÉNOTYPE

Un têtard mutant (en haut) et un normal (en bas) sont représentés dans la fig. 1; ils sont aux premiers stades de la métamorphose proprement dite (st. 58/59). La différence dans

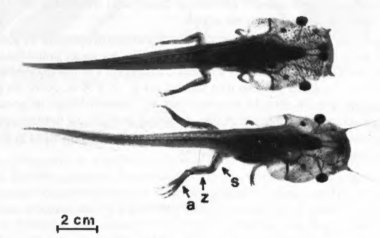


Fig. 1. – Têtards de *Xenopus laevis* au début de la métamorphose (st. 58/59) : mutant *abj* en haut et normal en bas ; s = stylopode ; z = zeugopode ; a = autopode.

l'orientation des pattes est nette; chez le normal, le stylopode de la patte postérieure forme un angle aigu par rapport à l'axe de la queue tandis que, chez le mutant, l'angle est droit, sinon obtus. Chez ce dernier, les autres éléments de la patte, zeugopode et autopode, forment également un angle droit par rapport au stylopode; ils sont continus l'un à l'autre, sans flexion, rendant la patte raide et immobile. Cette anomalie n'est décelable avec certitude qu'à partir du st. 55/56, moment de l'apparition des premières flexions des pattes chez les normaux; elles ne se produisent pas chez les mutants; jusque-là, les palettes sont semblables, droites et parallèles au corps. Dans les stades prométamorphiques, les observations ont été faites sur les pattes postérieures, libres, car les pattes antérieures se développent dans l'atrium et ne peuvent être observées facilement. Dès le st. 58, elles sont libérées, et on voit que leur position est également anormale; elles sont orientées latéro-ventralement au lieu de l'être latéralement mais bien articulées, probablement du fait de leur position repliée pendant le développement dans l'atrium.

Le têtard anormal de la fig. 1 représente la majorité des cas observés; on trouve cependant quelques variations dans ces anomalies. Le stylopode peut parfois former un angle obtus par rapport à l'axe de la queue et s'orienter antérieurement ou même antéro-dorsalement; ou bien, au contraire, l'angle de la patte peut être très aigu, parfois sans flexion entre le stylopode et le zeugopode, ce qui donne une patte complètement rigide et "collée" au corps.

En général, les anomalies des deux pattes sont symétriques mais on observe quelques cas d'asymétrie où l'on peut avoir une patte à angle droit et l'autre "collée". En outre, on peut trouver quelques rares cas de syndactylie, d'ectrodactylie ou de clinodactylie. D'autre part, certains têtards mutants ne possèdent pas de tentacules (voir fig. 1) mais aucune corrélation n'a été observée entre l'absence de tentacules et l'anomalie des pattes.

La coloration spécifique des cartilages de têtards *in toto* a montré que, dans la majorité des cas, tous les éléments squelettiques sont présents chez les mutants, mais ce sont les coupes histologiques qui ont le mieux révélé l'anomalie principale, l'insertion anormale du fémur dans l'acétabulum. La fig. 2 illustre un cas où cette insertion s'est faite en direction antérieure et non postérieure comme dans le cas normal. Cette anomalie articulaire se répercute sur les muscles qui sont également déformés et mal orientés. De même, dans la ceinture scapulaire, l'humérus est anormalement articulé.

A part les pattes, les têtards mutants sont morphologiquement et anatomiquement normaux, seule leur croissance est un peu retardée dès les stades prométamorphiques (st. 53/54). Lorsque les premiers têtards normaux commencent à se métamorphoser (st. 58, environ 40 jours), les futurs mutants n'en sont qu'aux st. 55 à 56 et, quand les premiers mutants atteignent le st. 58, 50% des normaux l'ont déjà dépassé. Malgré les précautions prises pour maintenir en vie les mutants le plus longtemps possible, ils meurent tous pendant la métamorphose, dès le st. 62/63 (stade intermédiaire où la tête et le corps ont acquis la forme adulte alors que la queue n'a que peu régressé).

Discussion

Le mécanisme d'action d'un gène est un phénomène très complexe. Un phénotype mutant est le résultat d'une série d'interactions intra- et extracellulaires contrôlées par le gène.

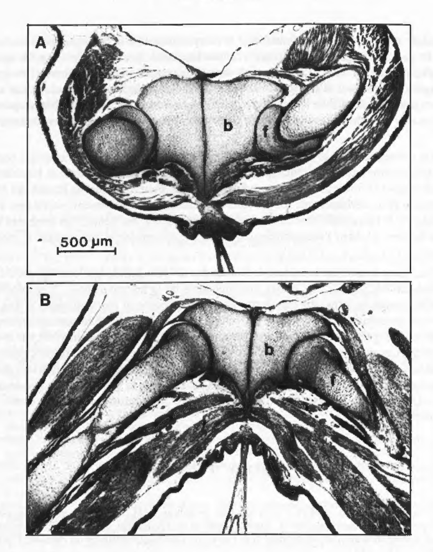


Fig. 2. – Coupes frontales des ceintures pelviennes de têtards, *abj* (A) et normal (B) ; b = bassin ; f = fémur (partie antérieure du corps en haut).

Ainsi, l'effet primaire du gène peut s'exprimer tôt dans le développement mais n'induire que plus tard d'autres effets produisant le phénotype anormal.

L'analyse sommaire du phénotype *abnormal joints* ne permet pas de déceler l'origine de l'anomalie. Le développement du membre est un processus très compliqué impliquant, dès la formation du bourgeon jusqu'à l'achèvement de la patte, toute une série d'interactions morphologiques, biochimiques et systémiques entre les tissus qui le composent (revue par HINCHLIFFE & JOHNSON, 1980); aussi l'action du gène mutant peut-elle interférer à n'importe quel niveau au cours de ce développement.

Cependant, dans le cas de la mutation *abj*, on peut supposer que les effets du gène se

manifestent relativement tardivement dans la morphogenèse de la patte puisque tous les éléments en sont normalement constitués. L'anomalie semble plutôt résider dans les articulations, principalement entre la ceinture et le stylopode mais aussi entre stylopode, zeugopode et autopode provoquant la rigidité de la patte. Mais l'articulation elle-même, cavité articulaire entourée d'une capsule fibreuse, est aussi le résultat d'une série de spécialisations de condensations mésodermiques au cours de laquelle les produits du gène peuvent exercer leurs effets.

De même, pendant la métamorphose, d'innombrables gènes interviennent qui régissent toutes les transformations morphologiques et les interactions physiologiques et biochimiques indispensables à la formation d'une grenouille normale. Pour expliquer la létalité des têtards mutants, on peut envisager que les produits du gène *abj*, non seulement interfèrent avec la formation de la patte mais pourraient également provoquer des déficiences majeures au niveau cellulaire, inhibant l'accomplissement de la métamorphose et provoquant la mort des têtards.

Une autre hypothèse considère la létalité des têtards comme une conséquence directe de l'anomalie des pattes. Aux stades intermédiaires de la métamorphose, il se produit un déséquilibre entre le corps déjà transformé et la queue encore en partie présente. Dans le cas des têtards normaux, cette instabilité est compensée par la position écartée des pattes postérieures tandis qu'elle ne l'est pas pour les têtards *abj*; les animaux se mettent sur le flanc, se retournent et meurent noyés. Ce phénomène avait déjà été observé dans le cas des mutants *polydactyles* et *abnormal limbs* où le petit nombre de têtards survivant à la métamorphose ne comprenait que ceux qui présentaient l'expression la plus faible de ces deux mutations. De nouvelles analyses et expériences seraient nécessaires pour mieux cerner cette nouvelle anomalie.

Remerciements

Je remercie Mlle M. Quentin pour son aide technique, MM. A. Solaro et A. Portianucha pour les photographies ainsi que Mlle Y. Develey pour la dactylographie. Ce travail a été effectué grâce à une subvention du Fonds national suisse de la recherche scientifique attribuée au Prof. M. Fischberg (requête no 3.775.-0.80).

Résumé

Abnormal joints (abj) est une mutation récessive létale affectant les pattes des têtards; elle a été trouvée dans une famille de *Xenopus laevis* dont le père était un mâle homozygote pour la mutation *periodic albinism* (a^p/a^p). Les deux gènes, *abj* et a^p présentent une ségrégation indépendante. En outre, des croisements effectués entre des hétérozygotes *abj* et des hétérozygotes pour les deux autres mutations affectant également les pattes, *polydactyly (pd)* et *abnormal limb (abl)*, ont montré que ces trois gènes ne sont pas alléliques.

Les pattes des têtards mutants, normalement constituées, sont mal orientées. L'anomalie affecte les quatre pattes mais elle s'observe plus facilement sur les pattes postérieures.

Dans la majorité des cas, le stylopode forme un angle droit par rapport à l'axe de la queue puis un second angle droit avec le zeugopode; en outre, il n'y a pas de flexion entre le zeugopode et l'autopode. Sur les coupes de ceinture pelvienne, on voit que l'insertion du fémur dans l'acétabulum est anormale; on en conclut provisoirement que l'anomalie se situe au niveau des articulations. Le développement général des mutants est un peu plus lent que celui des têtards normaux; ils meurent tous pendant la métamorphose.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABBOTT, U.K. & WENDEL YEE, G., 1975. – Avian genetics. *In*: R.C. KING (ed.), *Handbook of Genetics*, New York, Plenum Press, Vol. **4** : 151-200.

ARMSTRONG, J.B., 1985. – The axolotl mutants. *Devel. Genetics*, **6** : 1-25.

BROWDER, L.W., 1975. – Frogs of the genus *Rana*. *In*: R.C. KING (ed.), *Handbook of Genetics*, New York, Plenum Press, Vol. **4** : 19-33.

DROIN, A. & CHAVANE, M.C., 1976. – A recessive semi-lethal mutation, "distended lungs" (dl) affecting the tadpoles of *Xenopus laevis*. *Acta Embryol. Morph. exper.*, **3** : 273-289.

DROIN, A. & FISCHBERG, M., 1980. – Abnormal limbs (abl), a recessive mutation affecting the tadpoles of *Xenopus laevis*. *Experientia*, **36** : 1286-1287.

DUBOIS, A., 1979. – Anomalies and mutations in natural populations of the *Rana esculenta* complex (Amphibia, Anura). *Mitt. Zool. Mus. Berl.*, **55** : 59-87, p. I.

GREEN, M.C., 1975. – The laboratory mouse, *Mus musculus*. *In*: R.C. KING (ed.), *Handbook of Genetics*, New York, Plenum Press, Vol. **4** : 203-241.

HINCHLIFFE, J.R. & JOHNSON, D.E., 1980. – *The development of the Vertebrate limb*. Oxford, Clarendon Press : 1-268.

HOPERSKAYA, O.A., 1975. – The development of animals homozygous for a mutation causing periodic albinism (a^p) in *Xenopus laevis*. *J. Embryol. exp. Morph.*, **34** : 253-264.

HUMPHREY, R.R., 1967. – Genetic and experimental studies on a lethal trait (short toes) in the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *J. exp. Zool.*, **164** : 281-296.

HUMPHREY, R.R. & CHUNG, H.M., 1977. – Genetic and experimental studies on three associated mutant genes in the Mexican axolotl: st (for stasis), mi (for microphtalmic) and h (for hand lethal). *J. exp. Zool.*, **202** : 195-202.

LAUTHIER, M., 1971. – Etude descriptive d'anomalies des membres postérieurs chez *Pleurodeles waltlii* Michah. *Ann. Embryol. Morph.*, **4** : 65-78.

MAHONEY, R., 1966. – *Laboratory techniques in Zoology*. London, Butterworth : 1-340.

NIEUWKOOP, P.D. & FABER, J., 1956. – *Normal table of* Xenopus laevis (*Daudin*). Amsterdam, North Holland Publishing Co. : 1-252.

ROSTAND, J., 1959. – L'anomalie P chez la grenouille verte (*Rana esculenta* L). *Bull. biol. Fr. Bel.*, **93** : 7-15.

UEHLINGER, V., 1969. – Une mutation récessive (pd) déterminant la polydactylie chez *Xenopus laevis* D (Batraciens Anoures). *J. Embryol. exp. Morph.*, **21** : 207-218.

Alytes, 1988, 7 (2): 52.

HAVE YOU EVER SEEN A TADPOLE OF REPTILE?

No ? Then, see the next issue of this journal.

Erythrocyte size as an indicator of ploidy level in *Rana* kl. *esculenta* before and after the metamorphosis

Manuel POLLS PELAZ & Jean-Daniel GRAF

Station de Zoologie expérimentale,
Université de Genève,
154 route de Malagnou,
1224 Chêne-Bougeries/Genève, Switzerland

The mean erythrocyte length is sufficient to classify *Rana* kl. *esculenta* individuals as diploid or triploid. Because erythrocyte size increases after metamorphosis and during the first year of postmetamorphic development, criteria for ploidy determination have to be modified according to the age of the tested animals. In contrast, the size of the erythrocyte nucleus does not significantly increase during development.

INTRODUCTION

It has long been known that erythrocyte populations in Anurans are replaced during metamorphosis. Evidence for this replacement is provided by the transition from larval to adult hemoglobin in *Xenopus laevis* (JURD & MACLEAN, 1970) and *Rana catesbeiana* (MCCUTCHEON, 1936; BENBASSAT, 1974), as well as modifications in erythrocyte shape and ultrastructure in *Bufo bufo* (ANZANEL et al., 1983) and *Rana pipiens* (HOLLYFIELD, 1966), including changes of size and volume (MCCUTCHEON, 1936; HOLLYFIELD, 1966; ANZANEL et al., 1983). These studies indicate that tadpole erythrocytes usually are larger than adult erythrocytes.

Erythrocyte size often has been used as an easy mean of determining ploidy in the *Ambystoma jeffersonianum* complex (UZZELL, 1964; AUSTIN & BOGART, 1982), *Ambystoma mexicanum* (FANKHAUSER, 1945), *Xenopus* (GEORGE & LENNARTZ, 1980), *Rana* kl. *esculenta* (UZZELL & BERGER, 1975; GÜNTHER, 1977) and *Ceratophrys* species (MERCADAL, 1981).

A study of a green frog population (*Rana* kl. *esculenta* complex) in a natural pond of the Fontainebleau forest near Paris (France), revealed the presence of diploid and triploid individuals of hybrid constitution. The triploid hybrid subpopulation consists exclusively of males with an RLL constitution, i.e. one *Rana ridibunda* genome and two *Rana lessonae* genomes. The persistence of triploid males in the Fontainebleau population is assured by crosses of RLL males with RL females, owing to a particular mode of reproduction very similar to hybridogenesis (GRAF & POLLS, 1988).

GÜNTHER et al. (1979), HOTZ (1983), UZZELL et al. (1975) and BERGER & GÜNTHER

(1988) suggest that the erythrocytes of adult green frogs could be larger than those of immature specimens. While testing the erythrocyte size method for rapid determination of ploidy level in population samples, we noticed that the erythrocytes of tadpoles and young metamorphosed specimens were consistently smaller than those of adults of the same ploidy. It was therefore necessary to establish criteria allowing the determination of ploidy in individuals belonging to different age classes.

MATERIAL AND METHODS

Diploid and triploid adults of both sexes were collected during the years 1985, 86 and 87 from a pond in Chanfroy Plain (Fontainebleau forest, near Paris). Froglets were collected just after metamorphosis from the same pond (June 30, 1987).

The genotypes of diploid and triploid individuals were determined on the basis of electrophoretic phenotypes of lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AAT), and glucosephosphate isomerase (GPI), using techniques described in GRAF et al. (1977) and GRAF & MÜLLER (1979). Triploid hybrids were distinguished from diploids on the basis of gene-dosage effects visible in electrophoretic patterns of LDH (UZZELL et al., 1975; GÜNTHER & HÄHNEL, 1976). Some karyotypes were made to confirm the validity of this method. For the adult frogs analysis, 10 triploid *Rana* kl. *esculenta*, all of them males (there are no triploid females in the Chanfroy pond), as well 20 diploid *Rana* kl. *esculenta* (10 males, 10 females), and 5 diploid *Rana lessonae* (1 female, 4 males) were utilized.

Diploid and triploid tadpoles were obtained from selective experimental crosses (cross 4-86) or from frogs caught in amplexus (crosses 1-85 and 5-87) and allowed to lay eggs in the laboratory. Parents of each isolated clutch were identified by enzyme electrophoresis. Similarly, the genotypes of progenies from crosses 1-85 and 4-86 were determined on the basis of their electrophoretic phenotypes, whereas the progeny from cross 5-87 were assumed to have an RL constitution (one *ridibunda* genome and one *lessonae* genome) based on the genotypes of the parents. The identity of the parents and progenies of each cross are described in Table I.

Tadpoles were reared in 1.5 l. tanks at the density of 10-20 tadpoles per liter, in dechlorinated water changed once a day. The larvae were fed with a progressive diet of cooked egg yolk. Only tadpoles showing a good vitality were analysed. Classification of larval stages was made on the basis of the characteristics described by GOSNER (1960).

Blood smears of adults were obtained by cutting a finger. Blood smears of tadpoles were obtained by cutting the extremity of the tail; controls were made in tadpoles by taking blood from the heart, to confirm that the size of the erythrocytes circulating in the tail did not differ from the average erythrocyte size.

Erythrocytes were measured on drawings from dried blood smears using a *camera lucida* at magnification of 1000. In adults, as well as in froglets and tadpoles, 4 measures were taken : the major and minor axes of the optical sections of the whole cell and the nucleus. Ten randomly chosen erythrocytes for each individual, and 10 individuals for each group, were considered for the statistical analysis. Only erythrocytes showing clear limits of the cytoplasm and nuclear membranes were measured. The area of an optical section through the

Cross 1-85

♀ ESCULENTA 2n (RL) x ♂ ESCULENTA 2n (RL)

↓

♀♀ RIDIBUNDA 2n (RR)

Cross 4-86

♀ ESCULENTA 2n (RL) x ♂ ESCULENTA 3n (RLL)

↓

♂♂ ESCULENTA 3n (RLL)

Cross 5-87

♀ ESCULENTA 2n (RL) x ♂ LESSONAE 2n (LL)

↓

♀♀, ♂♂ ESCULENTA 2n (RL)

Table I. – Origin of tadpoles and froglets used in this study. The patterns of inheritance in the three crosses result from the hybrid constitution of *esculenta* and the exclusion of one parental genome in the hybrids' germ cells (review in GRAF & POLLS, 1988). In cross 1-85, both RL parents clonally transmitted a R (= *ridibunda*) genome to progeny. In cross 4-86, the triploid RLL male contributed two L (= *lessonae*) genomes and the diploid RL female contributed one R genome. In cross 5-87, the diploid RL female clonally transmitted a R genome and the LL male transmitted non-clonal L genomes to progeny.

two longer dimensions of the cell was estimated as π.a.b, where a and b are one half the cell length and width.

Among the progeny from cross 4-86, two samples were separately studied with respect to the wintering period. The first was kept at 0 to 5°C in a cold room during 4 months to simulate hibernation; the animals did not eat during this period. The second group was maintained at about 20°C from December to April, and was given a normal diet (living insects).

RESULTS AND DISCUSSION

The mean values, standard deviations, and the maximal and minimal values of the four considered parameters (i.e. lengths of cell and nucleus major axis, areas of cell and nucleus optical sections) are given for each studied group in Table II. Three adult phenotypes have been distinguished (*Rana* kl. *esculenta* 2n, *Rana* kl. *esculenta* 3n, and *Rana lessonae* 2n), as well as three groups of tadpoles and froglets (*Rana* kl. *esculenta* 2n, *Rana* kl. *esculenta* 3n, *Rana ridibunda* 2n originating from the homotypic *Rana* kl. *esculenta* 2n crosses).

In all analysed diploid and triploid lineages a clear increase of the erythrocyte length

Table II. – Erythrocyte size in diploid and triploid green frogs from the Chanfroy population.

		Cell length (μm)			Nucleus length (μm)			Cell area (μm²)			Nucleus area (μm²)		
		mean	SD	range	mean	SD	range	mean	SD	range	mean	SD	range
esculenta 3n	tadp. s 44	25.0	1.6	27.5-22.2	10.6	0.5	12.5-10.0	288.8	25 0	319.9-241 3	52 6	5.0	62 3-44.8
esculenta 3n	postmetam.	25.0	0.3	25 5-24.3	11.2	0.7	12.3-10.0	297.3	18 5	323.3-274 2	55 2	8 6	68 1-43.6
esculenta 3n	before 1st hib.	27.6	1.0	29 6-26.1	11.5	0.3	12.1-11.1	365.3	21 4	400.4-333 9	48.3	3.8	55 3-43.0
esculenta 3n	hibernating	28.4	0.9	29.7-27.5	11.9	0.4	12.6-11.4	375.5	13 7	405.9-327.7	59.9	7.4	71.7-51.6
after 1st. hib.	non hib.	29.2	0.9	31.0-28.2	12.8	1.5	15 7-11.8	387.2	27 6	427.9-344.9	56.4	2.4	60.5-53.6
	hib. + n. hib.	28.8	0.9	31.0-27.5	12.4	0.9	15 7-11.4	381.3	20.7	427.9-327.7	58.1	4.9	71.7-51.6
esculenta 3n	adults	29.8	1.4	31.7-27.1	11.5	0.8	12 9- 9.9	420.7	31.5	459.2-382.9	54.9	7.6	64.9-42.2
esculenta 2n	tadp s 36	18.1	0.5	18.9-17 4	9.8	1.5	13 8- 8.6	189.5	13.3	215.5-168.3	47.5	8 6	69 7-38.5
ridibunda 2n	tadp. s. 44	20.8	1.4	22 7-18 5	9.7	0.7	10.8- 8.6	192.7	21.7	230.1-169 4	46.3	7 2	57 8-35.7
esculenta 2n	postmetam.	20.8	1.0	21.7-18.9	8.5	0.6	9.2- 7.7	209.7	16 7	230.7-184 2	38 3	5.7	47.5-28.7
	♂♂	23.3	0.7	25.4-22.9	9.0	0.6	9.8- 8.4	277.4	12 6	296.5-245.7	39.4	5.4	49.5-29.7
esculenta 2n adults	♀♀	23.9	0.8	25.0-23.0	8.9	0.6	9.6- 7.5	286 4	13.1	305.3-258.6	39.4	5.1	47.5-32 4
	♂♂ + ♀♀	23.6	0.7	25.4-22.7	9.0	0.6	9.8- 7 5	281 9	12.9	305.3-245.7	39.4	5.3	49.5-29.7
lessonae 2n	adults	24.9	2 3	28.5-22.4	9 0	1 0	10.8- 7 8	301.5	38.0	357.1-243.6	42.4	13.3	67.7-28.7

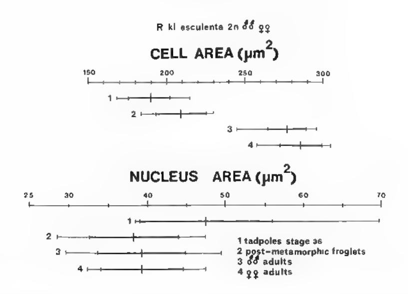


Fig. 1. – Top : means and ranges of cell areas of erythrocytes in diploid *Rana* kl. *esculenta* during ontogenesis. Bottom : means and ranges of nucleus areas of erythrocytes in diploid *Rana* kl. *esculenta* during ontogenesis.

and area was observed, from larval to adult stages during ontogenesis. This increase in erythrocyte size is illustrated in fig. 1 for diploid *Rana* kl. *esculenta* : the mean erythrocyte area varies from 189 μm^2 in tadpoles to 286 μm^2 in adult females and 277 μm^2 in adult males, with an intermediate value of 210 μm^2 just after metamorphosis. In contrast, the nucleus area decreased from 47 μm^2 in tadpoles to about 38 μm^2 in young metamorphosed frogs and in adults.

In triploid *Rana* kl. *esculenta* (RLL) the mean erythrocyte area increased from 289 μm^2 in tadpoles to 421 μm^2 in adults; the nucleus area did not vary significantly during ontogenesis in triploids (fig. 2). Interestingly, the mean erythrocyte areas found in triploids exceed by a factor of 1.5 the corresponding values of diploids. Hibernation apparently had no effect on erythrocyte replacement in triploid froglets.

Differences between tadpoles and adults were also observed with respect to erythrocyte shape: the coefficient of excentricity a/b is lower in larval erythrocytes (a/b = 1.40 for diploid tadpoles) than in adult erythrocytes (a/b = 1.56 for diploids). The mean excentricity in adult triploids is 1.68. DAVISON (1959) similarly observed that the coefficient of excentricity of *Triturus* erythrocytes was higher in triploids than in diploids.

Of practical interest is the confirmation that diploid and triploid *Rana* kl. *esculenta* are well distinguishable on the basis of the mean erythrocyte length in samples of similar age category (fig. 3, 4, 5). This discrimination is especially clear in adults (fig. 4). In addition, it is worth noting that the mean cell length and area of erythrocytes of the "good" species *Rana lessonae* (CL = 24.9 µm; CA = 301.5 μm^2) are slightly higher than the mean values found for the diploid specimens of the hybrid *Rana* kl. *esculenta* (CL = 23.6 µm; CA = 281.9 μm^2).

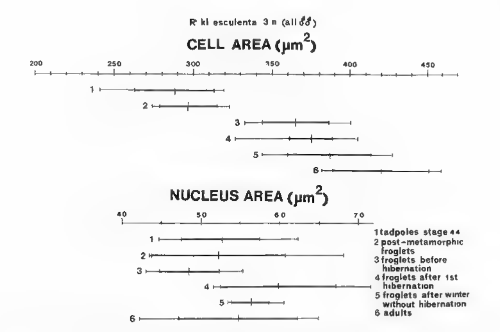


Fig. 2. – Top : means and ranges of cell areas of erythrocytes in triploid *Rana* kl. *esculenta* during ontogenesis. Bottom : means and ranges of nucleus areas of erythrocytes in triploid *Rana* kl. *esculenta* during ontogenesis.

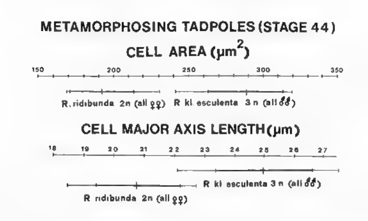


Fig. 3. – Diagram of erythrocyte size in diploid and triploid tadpoles.

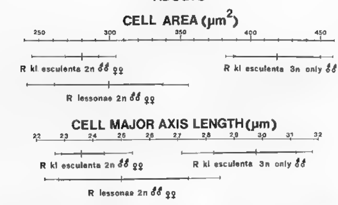


Fig. 4. – Diagram of erythrocyte size in adults of *Rana* kl. *esculenta* (diploid and triploid) and *Rana lessonae*.

a c b d

Fig. 5. – Photomicrographs (×675) of erythrocytes of *Rana* kl. *esculenta* : a. – diploid adults, b. – diploid postmetamorphic froglets, c. – triploid adults, d. – triploid postmetamorphic froglets.

Acknowledgements

Wild animals were collected with a permission number 87169 of the Direction de la Nature in France. We thank Dr. A. Dubois (Paris) and other members of the French Batrachological Society (S.B.F.) for helping in the field work. Dr. H. Tunner identified by electrophoresis and karyotypes the parents of cross 1-85. We thank Mrs. Yvette Develey for typing the manuscrit, and Mr. Alex Portianucha for preparing the figures.

Résumé

La longueur moyenne des érythrocytes constitue un paramètre suffisant pour distinguer, dans le complexe de *Rana* kl. *esculenta*, les spécimens triploïdes des spécimens diploïdes. Cependant, étant donné que la taille des érythrocytes augmente pendant la métamorphose et la première année de développement post-métamorphique, le critère de discrimination doit être modifié en fonction de l'âge des individus étudiés. La surface du noyau des érythrocytes n'augmente pas significativement au cours du développement.

Literature cited

Anzanel, D., Salvatorelli, G. & Bovolenta, R., 1983. – Les globules rouges pendant le développement embryonnaire, larvaire et la métamorphose chez *Bufo bufo*. Observation à m.e. à transmission et à balayage. *Annal. Univ. Ferrara Sez. Biol.*, **3** : 51-57.

Austin, N.E. & Bogart, J.P., 1982. – Erythrocyte area and ploidy determination in the salamanders of the *Ambystoma jeffersonianum* complex. *Copeia*, **1982** : 485-488.

Benbassat, J., 1974. – The transition from tadpole to frog haemoglobin during natural amphibian metamorphosis. *J. Cell Sci.*, **15** : 347-357.

Berger, L. & Günther, R., 1988. – Genomic composition and reproduction of water frog populations (*Rana* kl. *esculenta* Synklepton) near Serrahn, G.D.R. *Arch. Naturschutz u. Landschaftsforsch.*, in press.

Davison, J., 1959. – Studies on the form of the amphibian red blood cell. *Biol. Bull.*, **116** : 397-405.

Fankhauser, G., 1945. – The effects of changes in chromosome number on amphibian development. *Quart. Rev. Biol.*, **20** : 20-78.

George, S.A. & Lennartz, M.R., 1980. – Methods for determining ploidy in the amphibians: nucleolar number and erythrocyte size. *Experientia*, **36** : 687-688.

Gosner, K.L., 1960. – A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, **16** : 183-190.

Graf, J.-D. & Müller, W.P., 1979. – Experimental gynogenesis provides evidence of hybridogenetic reproduction in the *Rana esculenta* complex. *Experientia*, **35** : 1574-1576.

Graf, J.-D., Karch, F. & Moreillon, M.-C., 1977. – Biochemical variation in the *Rana esculenta* complex: a new hybrid form related to *Rana perezi* and *Rana ridibunda*. *Experientia*, **33** : 1582-1584.

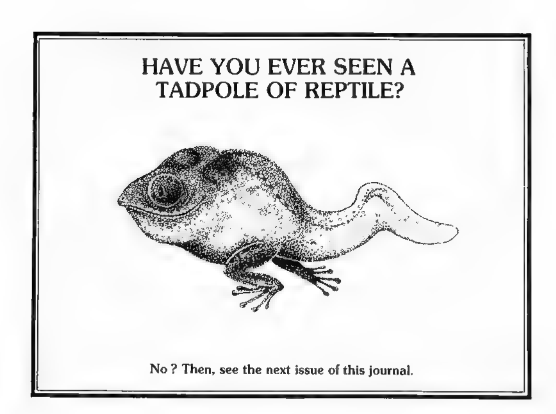
Graf, J.-D. & Polls Pelaz, M. 1988. – Evolutionary genetics of the *Rana esculenta* complex. *In*: Dawley, R.M. & Bogart J.P. (eds.), Evolution and Ecology of Unisexual Vertebrates, *Bull. New York State Museum*, Albany, N.-Y., USA, in press.

Günther, R., 1977. – Die Erythrozytengrösse als Kriterium zur Unterscheidung diploider und triploider Teichfrösche, *Rana "esculenta"* L. (Anura). *Zool. Zentralbl.*, **96** : 457-466.

Günther, R. & Hähnel, S., 1976. – Untersuchungen über den Genfluss zwischen *Rana ridibunda* und *Rana lessonae* sowie die Rekombinationsrate bei der Bastardform *Rana "esculenta"* (Anura, Ranidae). *Zool. Anz.*, **197** : 23-38.

GÜNTHER, R., UZZELL, T. & BERGER, L., 1979. – Inheritance patterns in triploid *Rana "esculenta"* (Amphibia, Salientia). *Mitt. Zool. Mus. Berlin*, **55** : 35-57.
HOLLYFIELD, J.G., 1966. – Erythrocyte replacement at metamorphosis in the frog, *Rana pipiens*, *J. Morph.*, **119** : 1-5.
HOTZ, H., 1983. – *Genetic diversity among water frog genomes inherited with and without recombination*. Ph. Dissertation, Univ. Zürich : 1-136.
JURD, R D. & MACLEAN, N., 1970. – Immunofluorescent study of the haemoglobins in metamorphosing *Xenopus laevis*. *J. Embryol. exp. Morph.*, **23** : 299-309.
MCCUTCHEON, F.H., 1936. – Hemoglobin function during the life history of the bullfrog. *J. cell. comp. Physiol.*, **8** : 63-81.
MERCADAL, I.T., 1981. – Determinación del nivel de ploidía en ejemplares preservados del género *Ceratophrys*. *Amphibia-Reptilia*, **3/4** : 205-212.
UZZELL, T.M., 1964. – Relations of the diploid and triploid species of the *Ambystoma jeffersonianum* complex (Amphibia : Caudata). *Copeia*, **1964** : 257-300.
UZZELL, T.M. & BERGER, L. 1975. – Electrophoretic phenotypes of *Rana ridibunda, Rana lessonae*, and their hybridogenetic associate *Rana esculenta*. *Proc. Acad. nat. Sci. Phila* , **127** : 13-24.
UZZELL, T.M., BERGER, L. & GÜNTHER, R., 1975. – Diploid and triploid progeny from a diploid female of *Rana esculenta* (Amphibia Salientia). *Proc. Acad. nat. Sci. Phila.*, **127** : 81-91.

Alytes, 1988, 7 (2): 62.



Alytes, 1988, 7 (2): 63-74.

Durée du développement larvaire de l'Urodèle *Euproctus montanus* (Amphibia, Salamandridae) dans deux localités corses d'altitudes différentes

Marc ALCHER

Laboratoire des Reptiles et Amphibiens,
Muséum national d'Histoire naturelle,
25 rue Cuvier, 75005 Paris, France

1173 larvae and recently metamorphosed young newts of the species *Euproctus montanus* were captured in two Corsican stations, one near Barcaggio and the other near Zonza.

Interpretation of the frequency distribution of total length suggests that at Barcaggio, a low altitude warm station, metamorphosis occurred in the same year as the hatching of the larvae, while at Zonza, a cold station about 850 meters above sea level, larval development required between 25 and 26 months, a longer period than previously assumed. Individuals reached metamorphosis at a larger body size in mountain river. Rearing experiment in laboratory showed the major role of temperature in explaining such differences.

INTRODUCTION

L'Euprocte corse, *Euproctus montanus*, est une espèce endémique dont la répartition est limitée à la Corse.

Les travaux qui lui ont été consacrés concernent essentiellement sa répartition géographique sur l'île, fort large tant horizontalement que verticalement, les caractéristiques des milieux colonisés, et quelques aspects de sa biologie, notamment de sa reproduction (GOUX, 1953, 1955; ALCHER, 1978, 1981, 1985).

Le présent article aborde un problème qui n'a pas été à ce jour étudié précisément, celui de la durée de son développement larvaire, et ce à partir d'observations effectuées dans deux stations d'altitudes différentes.

Matériel et méthodes

Caractéristiques des stations

Barcaggio

La station se situe sur l'Acqua-Tignese, petite rivière coulant sur des schistes et des ophiolites au nord du Cap Corse et étudiée par Roche (1975), à qui seront empruntées les données suivantes.

D'une longueur de 10 kilomètres, ayant sa source à 400 mètres d'altitude et une pente moyenne de 40%, cette rivière possède des eaux minéralisées et légèrement basiques. Elles présentent une conductivité électrique très forte (360 à 800 mhos.10^{-6}.cm^{-1}), une alcalinité ainsi qu'une dureté totale fortes à très fortes (183 à 439 mg/l $HCO3^{-}$ et TH=16,5 à 45,5 °F), des teneurs en chlorures et sulfates supérieures à la normale (58 à 140 mg/l Cl^{-} et 20 à 36 mg/l SO4). Les eaux sont organiquement très pures (absence totale des formes de l'azote et des phosphates) et d'excellente qualité biologique (indice biotique égal à 10).

Il s'agit donc d'une station très particulière pour la Corse du fait de sa dureté. On sait en effet que les eaux de l'île sont de très douces à assez dures, en raison de leur écoulement sur des substrats éruptifs, principalement, ou schisteux (Roche, 1974).

La station représente une toute petite portion de l'Acqua-Tignese située à 80 mètres d'altitude, la seule en eau durant l'été.

Bordée d'Aulnes, peuplée d'Anguilles, de Discoglosses et de Grenouilles vertes, elle comprend, en juillet-août, quelques petits bassins de très faible profondeur à eau stagnante ainsi que quelques filets d'eau légèrement courante. Au printemps, l'eau s'écoule rapidement sur une largeur maximum de 4 mètres et une profondeur n'excédant pas une vingtaine de centimètres.

Les 19-20.04.1978, 22-23.05.1983, 07-08.07.1979, 13.08.1976 et 29.08.1981, l'eau était à une température de 11 à 13°C, 15,5 à 17°C, 19 à 20,5°C, 21°C et 18 à 20°C.

Zonza

Sous cette appellation sont regroupés deux torrents de la forêt de Zonza, distants de quelques kilomètres.

Toutes les larves proviennent de l'un d'eux, situé entre 840 et 890 mètres d'altitude environ, et où se succèdent en été de vastes bassins d'eau calme et des zones courantes plus étroites. Le pH est proche de la neutralité et la dureté totale inférieure à 2°F. Les vitesses maximales de l'eau, mesurées le 18.04.1978 et le 24.08.1981 étaient respectivement de 97 cm/s (sur une section de 4500 cm^2) et de 23,5 cm/s (section de 122 cm^2). Les températures de l'eau relevées en avril 1978, fin mai 1983, fin juin-début juillet 1979 et fin août 1981 sont comprises respectivement entre 4 et 6°C, 8 et 9,5°C, 13 et 17,5°C et 13 et 15°C. Le 14.10.1984, l'eau était à 11°C.

Truites et Discoglosses peuplent ce torrent dans lequel une larve de Salamandre fut également observée.

Échantillonnage

Les larves sont capturées, après repérage visuel, à l'aide d'une petite épuisette pour les plus grosses ou d'un tube muni d'une poire aspirante pour les plus petites.

L'âge des larves, une fois celles-ci découvertes, n'influe par sur la probabilité de capture. Il pourrait par contre biaiser l'échantillonnage s'il agissait sur leur répartition au sein du torrent (tout particulièrement à Zonza), les zones d'une profondeur supérieure à 45 cm n'étant pas explorées. Par ailleurs, les très jeunes larves, dissimulées sous de très petits cailloux, sont peut-être plus difficiles à découvrir.

Dans la station de Zonza où la population est abondante, la capture des larves se fait à raison d'un individu par minute.

Mensurations et exploitation des résultats

Les larves et juvéniles, une fois anesthésiés au MS222 puis étendus sur le dos, sont mesurés au pied à coulisse au 1/10 mm (longueur totale Lt). Dès leur réveil, ils sont relâchés dans le milieu naturel.

Les données sont représentées sous forme d'histogrammes ayant pour intervalle de classe 1,5 mm. Pour ceux d'aspects polymodaux, la méthode de Harding (1949) a été utilisée afin de déterminer les effectifs des différents groupes sur lesquels, du fait de leur faible recouvrement, les paramètres statistiques (moyenne et écart-type) ont été calculés directement.

Les histogrammes sont présentés par ordre croissant des mois de haut en bas sans que cela corresponde à des séries chronologiques.

Élevages

Deux groupes de larves ont été placés en élévage, chaque individu étant isolé et nourri *ad libitum*. Le groupe 1, placé à 15°C, est issu de 57 œufs pondus du 15.05 au 02.06.1979 par une femelle capturée à Zonza à l'état larvaire, en juillet 1974, et métamorphosée le même mois. Le groupe 2, maintenu à la température de la pièce, provient de 43 œufs pondus du 25.05 au 08.06.1977 par une ou deux femelles de Zonza, capturées adultes en juillet 1974.

Résultats et interprétation

Trois échantillons ont été réalisés à chaque station, de 1978 à 1983. 1173 larves et juvéniles récemment métamorphosés ont ainsi été mesurés (390 à Barcaggio et 783 à Zonza) entre les mois d'avril et août compris (fig. 1 et 2).

De premiers résultats portant sur 83 larves de Zonza indiquent que la longueur museau-cloaque représente en moyenne 54,15% de la longueur totale, avec un écart-type de 1,40 et des valeurs limites égales à 50,2 et 59,7%.

STATION DE BARCAGGIO

Les trois histogrammes de la figure 1 apparaissent unimodaux (si l'on excepte les quelques rares individus isolés de plus grande taille) et peuvent s'interpréter de la façon suivante.

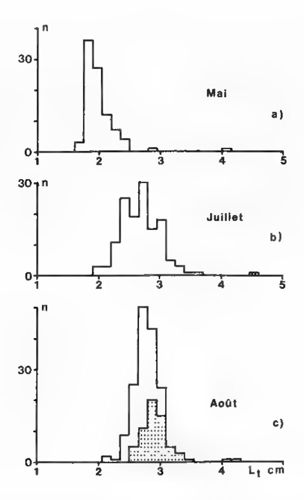


Fig. 1. – Distribution des fréquences des longueurs totales d'*Euproctus montanus* à l'état larvaire et juvénile. Station de Barcaggio. Blanc: totalité des individus; pointillés: larves à la métamorphose et juvéniles. (a) 22-23/05/83; n = 91; (b) 07-08/07/79; n = 135; (c) 29/08/81; n = 164.

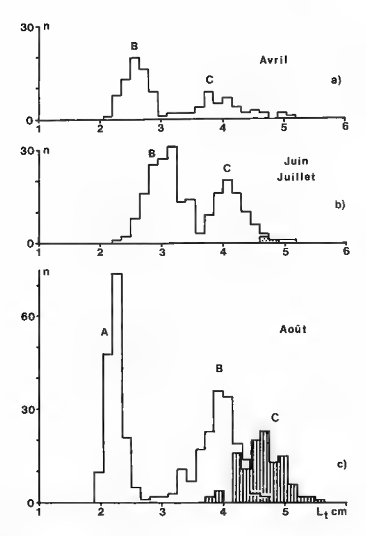


Fig. 2. – Distribution des fréquences des longueurs totales d'*Euproctus montanus* à l'état larvaire et juvénile. Station de Zonza. (a) 17-18/04/78; n = 113; (b) 28/06-01/07/79; n = 223; blanc : totalité des individus; pointillés : larves à la métamorphose et juvéniles; (c) 21-24/08/81; n = 447; blanc : larves n'ayant pas atteint la métamorphose; hachures : larves à la métamorphose et juvéniles.

Ecloses au printemps, à une date non déterminée (aucun Euprocte, à quelque stade de développement que ce soit, n'a pu être observé le 19.04.1978 dans une eau à 13°C, mais la force du courant créant des remoux en surface rendait les recherches difficiles), les larves se développent rapidement de fin mai à début juillet. Fin août, une importante partie de la population (37%), représentée en pointillés sur l'histogramme, est soit métamorphosée soit en cours de métamorphose. Les individus métamorphosés (n=36) se rencontrent dans l'eau ou sous des pierres humides, immédiatement au contact de la zone en eau du torrent. A l'ex-

Tableau I. – Caractéristiques des échantillons d'*Euproctus montanus*. Station de Barcaggio [n' : effectifs ayant servi pour le calcul des paramètres statistiques (exclusion des grands individus)].

Dates	n	n'	$\overline{Lt}$ (cm)	σ	Δ $\overline{Lt}$ (cm)
22-23/05/83	91	89	1,97	0,18	
07-08/07/79	135	134	2,68	0,31	0,71
29/08/81	164	163	2,79	0,21	0,11

ception d'un individu de 4,25 cm, ils ont des tailles comprises entre 2,53 et 3,35 cm ($\overline{Lt}$ = 2,91 cm; écart-type σ = 0,22 cm).

Les différences de longueur moyenne entre échantillons sont très inégales : 0,71 cm entre mai et juillet, 0,11 cm entre juillet et août (Tableau I). Elles traduisent un ralentissement de la vitesse de croissance des larves pendant la métamorphose et/ou, les échantillons n'ayant pas été réalisés, rappelons-le, la même année, l'impact des variations climatiques annuelles, entraînant des modifications dans la période de ponte et la croissance larvaire.

En somme, la métamorphose des larves semble se réaliser dans cette station l'année même de leur éclosion, excepté sans doute pour quelques-une d'entre elles (cas des 2 individus de grande taille sur l'histogramme de mai 1983). La période de métamorphose doit s'étaler principalement sur les mois d'août et septembre, aucune larve n'étant en transformation début juillet 1979 (seul un imago de grande taille – Lt = 4,58 cm – a été observé, correspondant sans doute à une larve née en 1978).

Cette station dont le faible débit, la situation à très basse altitude et la bonne exposition solaire lui confèrent des températures saisonnières relativement élevées, permet donc aux larves d'Euproctes d'avoir une durée de développement correspondant à la règle générale établie par Goux (1955).

Station de Zonza

L'histogramme de fin juin-début juillet 1979 (fig. 2b) se présente sous un aspect nettement bimodal ($\overline{Lt}$ = 3,03 et 4,14 cm) indiquant l'existence de 2 cohortes larvaires. Dans celle de plus grande taille, trois larves seulement étaient en cours de métamorphose (je rappellerai toutefois que chez les Euproctes, la métamorphose est un phénomène de longue durée, difficile à saisir tant à son commencement qu'à sa fin). Au même moment étaient observés 827 œufs à des stades de développement compris entre la segmentation et l'éclosion (Alcher, 1981).

L'interprétation la plus probable consiste à considérer que l'on est en présence de 3 cohortes A, B, C, chacune correspondant à une année (A : œufs de 1979; B : larves écloses en 1978; C : larves écloses en 1977). Cette interprétation supposant l'existence d'une seule période de ponte par an, 56 femelles de Zonza ont été disséquées afin de prendre connaissance de l'état de leurs ovaires, à l'aide du diamètre moyen de tous leurs ovocytes d'une taille supérieure à 1 millimètre.

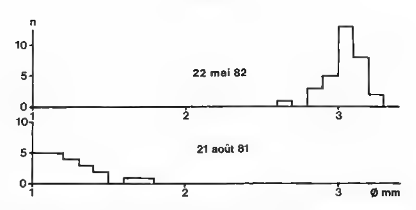


Fig. 3. – Distribution des fréquences des diamètres moyens des ovocytes dans les ovaires de deux femelles d'*Euproctus montanus*.

Trois femelles capturées mi-avril (1978) et disséquées début-mai possédaient des ovaires dont tous les ovocytes avaient un diamètre supérieur à 2 mm. Il en était de même des 15 femelles capturées dans la dernière semaine de mai (1982 et 1983). Deux d'entre elles étaient en train de pondre. Dix-neuf femelles sur 25, capturées fin juin-début juillet (1979), ne possédaient plus de gros ovocytes dans leurs ovaires, 5 n'en possédant qu'un ou deux, vraisemblablement résiduel, 1 enfin n'en présentant que 10 : sa ponte était en cours (ALCHER, 1981). Enfin, le 21 août (1981), 11 des 13 femelles examinées ne présentaient aucun ovocyte d'un diamètre supérieur à 1 mm, les 2 autres n'ayant toutefois pas d'ovocytes d'une taille supérieure à 2,5 mm (fig. 3).

On constate donc, à Zonza, une période de ponte qui commence à la fin-mai (pour l'année 1983) et s'achève au début du mois de juillet (1979), et un début de développement ovarien à la fin-août (1981). La relative homogénéité des femelles disséquées ne permet pas de constater l'existence de sous-populations à périodes de ponte nettement différentes (printanière et automnale).

Les données obtenues fin août 1981 sont présentées sous forme de deux histogrammes placés sur le même repère : celui des larves n'ayant pas commencé leur métamorphose d'une part, celui des larves en cours de transformation et des imagos d'autre part (fig. 2c). Le premier histogramme est d'aspect nettement bimodal ($\overline{Lt}$ = 2,24 cm et 3,90 cm). Les individus du second, unimodal, ont une longueur totale moyenne de 4,63 cm. Au sein de ceux-ci, les individus métamorphosés (branchies inexistantes ou presque), tous capturés dans le milieu aquatique et au nombre de 31, ont une longueur comprise entre 3,92 et 5,53 cm ($\overline{Lt}$ = 4,75 cm; σ = 0,36).

Nous retrouvons donc les 3 cohortes de fin juin-début juillet, avec sans doute une certaine approximation dans la mesure où certaines larves n'étant pas en métamorphose doivent être des individus tardifs de la cohorte C tandis qu'inversement certaines larves en cours de transformation représentent des individus précoces du groupe B. Le groupe de plus petite taille (A) correspond aux œufs pondus environ en juin de la même année.

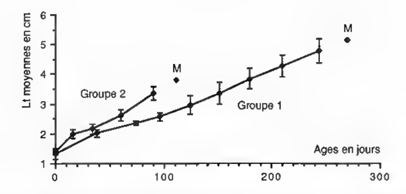


Fig. 4. – Croissance larvaire d'*Euproctus montanus* en élevage. Groupe 1 : n = 15, température : 15°C; Groupe 2 : n = 6, température de la pièce. Les âges sont donnés en prenant comme point de départ l'éclosion. Pour le groupe 1, à 244 jours, l'effectif n'est plus que de 14, une larve s'étant métamorphosée. M = Métamorphose. Barres verticales : 2 σ portés de part et d'autre de la valeur moyenne.

Enfin, l'histogramme d'avril 1978 (fig. 2a) met en évidence 2 groupes larvaires B et C ($\overline{Lt}$ = 2,60 et 4.04 cm) correspondant aux groupes A et B d'août, le groupe C, dont la dispersion est très élevée (σ = 0,43), contenant sans doute quelques larves de la cohorte de 1975, issues de pontes tardives et ne s'étant pas encore métamorphosées.

Dans cette station, la métamorphose semble donc ne survenir que la deuxième année après la ponte, à l'issue d'une vie larvaire comprenant deux hivers. On peut estimer celle-ci à environ 25-26 mois, si l'on considère que la période de ponte s'étale sur le mois de juin, celle des éclosions en juillet et que celle des métamorphoses est centrée sur la fin du mois d'août.

Cette très longue durée de vie larvaire comparativement à celle de Barcaggio (cette dernière environ 5 fois plus courte) s'accompagne de tailles à la métamorphose bien supérieures ($\overline{Lt}$ = 4,75 cm à Zonza contre 2,91 cm à Barcaggio). Elle peut s'expliquer par les conditions thermiques de cette station.

Celle-ci, bien que d'altitude modeste, représente une zone d'un torrent coulant sous couvert forestier et dont la température moyenne annuelle est très basse. La période pendant laquelle les températures moyennes journalières dans le courant atteignent (ou dépassent légèrement) 15°C, et où de ce fait la croissance larvaire n'est pas trop faible, est très limitée dans le temps. Elle peut être estimée à 2 mois par an, tandis que des conditions thermiques "hivernales" rigoureuses doivent s'établir pendant 6 mois environ.

De premiers résultats de croissance en élevage ont été obtenus. La croissance et la métamorphose des 15 larves du groupe 1 (placé à 15°C) et des 6 larves du groupe 2 (maintenu à la température de la pièce) sont données sur la figure 4.

La comparaison des résultats de ces 2 groupes (Tableau II) fait apparaître d'importantes différences dans les durées moyennes de développement larvaire (270 et 112 jours), les tailles moyennes à la métamorphose (5,14 et 3,78 cm) et les vitesses de croissance (0,42 et 0,64 cm/30 jours). On peut constater que la vitesse de croissance du groupe 1, placé à une

Tableau II. – Comparaison des croissances larvaires en élevage de deux groupes d'*Euproctus montanus*.

		Longueurs totales en centimètres		Durée du développement larvaire en jours	Croissance moyenne en mm/jours
		à l'éclosion	à la métamorphose		
Groupe 1 (n=15)	Moyennes	1,33	5,14	270	0,141
	Ecarts-types	0,09	0,29	11,24	
	Valeurs limites	1,10	4,62	244	
		1,49	5,55	280	
Groupe 2 (n=6)	Moyennes	1,39	3,78	112	0,214
	Ecarts-types	0,04	0,12	6,34	
	Valeurs limites	1,32	3,60	103	
		1,43	3,94	121	

température proche de celle de la station de Zonza en été, est peu différente de celle obtenue à partir de la différence des longueurs moyennes du groupe B d'août 1981 et du groupe B de fin juin-début juillet 1979 (0,48 cm/30 jours).

Signalons enfin que l'hypothèse de l'intervention d'autres facteurs explicatifs, notamment alimentaires, n'a pas été testée.

Les échantillons, qui ne correspondent pas à des séries chronologiques, ne seront pas exploités en terme de courbes de croissance et de survie larvaire. En effet, les variations climatiques annuelles, importantes en Corse, doivent introduire des modifications sensibles dans les périodes de ponte et de croissance larvaire qui viennent s'ajouter aux erreurs d'échantillonnage et à la difficulté de reconnaître parfaitement les différentes classes d'âge du fait de leur chevauchement sur les histogrammes, notamment pour le groupe C d'avril et les groupes B et C d'août.

On se contentera donc de remarquer (Tableau III) :

Tableau III. – Caractéristiques des groupes larvaires dans les échantillons d'*Euproctus montanus* de la station de Zonza.

		Groupes			Dates
		A	B	C	
n – %n			70-62%	43-38%	04/78
		159-48%	136-61%	87-39%	06, 07/79
			173-52%		08/81
			173-60%	115-40%	08/81
Lt (cm)	$\overline{X}$		2,60	4,04	04/78
		(œufs)	3,03	4,14	06, 07/79
		2,24	3,90	4,63	08/81
	σ		0,22	0,43	04/78
		(œufs)	0,26	0,30	06, 79/79
		0,14	0,34	0,35	08/81

- les écarts-types dont les valeurs sont croissantes la première année (de 0,14 à 0,34) puis approximativement stables la seconde, exceptée la valeur "anormale" de 0,43 déjà signalée en avril;

- les effectifs des différentes cohortes comparées 2 à 2 dans un même échantillon (pourcentages d'environ 60-40%, excepté pour les groupes A et B d'août: 48-52%; la faiblesse du pourcentage du groupe de petite taille s'explique peut-être par les difficultés d'observation des très jeunes larves);

- les différences de longueur moyenne des groupes pris 2 à 2 dans chaque échantillon, décroissante de 1,66 à 0,73 cm, pouvant traduire une diminution de vitesse de croissance avec l'âge des larves.

Toutefois, dans le cadre de nos interprétations, la cohorte B d'avril 1978 se retrouve en fin juin-début juillet 1979 (groupe C), tandis que la cohorte A (œufs) de fin juin-début juillet 1979 forme le groupe C d'août 1981 (larves en métamorphose). Les vitesses de croissance sont alors de 0,107 cm/mois pour la première cohorte et de 0,132 cm/mois pour la seconde (si l'on se base sur une longueur de 1,30 cm à l'éclosion – valeur moyenne obtenue à partir de 9 œufs –, celle-ci survenant à la mi-juin).

Discussion

Les interprétations ci-dessus se basent sur l'hypothèse d'une seule période de ponte annuelle. On sait que Bedriaga (1883), à partir de la présence d'adultes en septembre et début octobre à Bastelica et dans les environs de Bastia, considère que l'Euprocte présente 2 périodes de pontes, au printemps et en automne. Goux (1953), pour sa part, faisant remarquer, entre autres faits, que ces adultes ne sont en réalité que des individus demeurés dans le milieu aquatique durant l'été à la faveur de caractéristiques favorables de certaines stations, estime que l'espèce ne présente qu'une seule période de ponte annuelle, printanière, capable de s'étaler longuement dans certains cas.

C'est le point de vue de ce dernier auteur qui a été adopté ici, étant le plus en accord avec nos données de terrain (distribution des longueurs des larves, état des ovaires de 56 femelles à différentes périodes de l'année) et d'élevage.

Par ailleurs, il s'avère difficile de discuter et d'intégrer les données publiées concernant la durée du développement larvaire, par manque de précision sur les localités (et leurs caractéristiques, notamment thermiques), sur l'échantillonnage (ne serait-ce que les effectifs) et les méthodes de mensurations.

Nous signalerons tout de même que Bedriaga (1983) a décrit, en une même station, le 10 juillet, l'existence de 3 groupes larvaires de 10, 20 à 25 et 40 à 50 mm de longueur. S'il y voyait la justification de la conception d'un habitat proprement dit strictement montagnard pour l'espèce (les œufs, larves et adultes rencontrés à plus basse altitude ayant été entraînés par le courant), conception que Goux (1953) a clairement réfutée en démontrant la présence de populations autochtones à quelque altitude que ce soit à partir du niveau de la mer, il est intéressant de retrouver dans cette observation de Bedriaga la présence de nos trois groupes larvaires estivaux de Zonza, bien que les tailles signalées par cet auteur soient nettement différentes des nôtres.

Pour GOUX (1955), si "certaines larves n'ont pas le temps d'arriver à la métamorphose dans l'année même de leur naissance (...), dans leur grande majorité", elles "se métamorphosent entre le milieu d'août et octobre".

A partir des résultats du présent article, il faut admettre qu'un tel développement, en quelques mois, ne peut concerner que les stations les plus chaudes (exemple de Barcaggio) et que dans bien d'autres, les larves doivent passer un voire deux hivers (cas de Zonza) dans le milieu aquatique avant de subir leur transformation.

On ne manquera pas enfin de rappeler un fait déjà clairement mentionné par BEDRIAGA (1883) et GOUX (1953), à savoir qu'une grande variabilité climatique se manifeste entre les différentes années, avec des répercussions importantes sur les périodes de pontes et le développement larvaire. C'est ainsi que GOUX (1953) signale qu'à une même station (Bastia) et à la même époque (fin septembre), les larves étaient en très grand nombre très jeunes (et les adultes abondants dans le milieu aquatique) en 1950 et 1951, alors que la plupart étaient en métamorphose (et les adultes absents) en 1952, année plus sèche ayant donc entraîné un raccourcissement de la période de ponte.

A cette variabilité annuelle s'ajoute, à l'évidence, une variabilité entre les différents cours d'eau ainsi qu'entre les différentes zones d'un même cours d'eau. Il resterait toutefois à rechercher si ne s'ajoute pas, à l'influence des facteurs écologiques (thermiques, alimentaires...), celle de différences génétiques entre populations, et d'en étudier alors les conséquences au niveau du fonctionnement de ces populations.

Nous insisterons pour terminer sur la nécessité de respecter la station de Barcaggio en n'y prélevant pas d'individus du fait de son intérêt scientifique. On rappellera que l'Euprocte est présent presque partout sur l'île (ALCHER, 1978) et que de nombreuses stations sont d'accès bien plus facile et de populations bien plus importantes que celle de Barcaggio.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Michel DELAUGERRE (Laboratoire des Reptiles et Amphibiens du Muséum de Paris) qui a collecté 10 Euproctes et Jean RAFFAELLI à qui je dois le relevé thermique du 14.10.1984. Mes remerciements s'adressent aussi à la rédaction d'*Alytes* et à ses lecteurs anonymes qui m'ont permis d'améliorer la version initiale de l'article.

RÉSUMÉ

1173 larves et juvéniles récemment métamorphosés appartenant à l'espèce *Euproctus montanus* ont été capturés dans 2 stations corses, non loin de Barcaggio et de Zonza.

L'exploitation de la distribution des fréquences des longueurs totales de ces individus permet de penser qu'à Barcaggio, station chaude de basse altitude, la métamorphose s'effectue l'année même de l'éclosion des larves tandis qu'à Zonza, station froide située à 850 mètres d'altitude, le développement larvaire nécessite 25-26 mois, durée qui n'avait pas été supposée jusqu'à présent. Les animaux présentent une taille à la métamorphose supérieure dans la station de montagne. Des élevages au laboratoire montrent le rôle majeur joué par la température pour expliquer ces différences.

Références bibliographiques

ALCHER, M., 1978. – Euprocte corse. *In*: CASTANET, J. (réd.), *Atlas préliminaire des Reptiles et Amphibiens de France*, Montpellier, Soc. herpét. Fr.: 1-137: 20-21.

----- 1981. – Sur l'existence de soins parentaux chez *Euproctus montanus* (Urodela, Salamandridae). *Amphibia-Reptilia*, **2**: 189-194.

----- 1985. – Premières observations sur la garde des œufs chez *Euproctus montanus* (Urodela, Salamandridae). *Rev. fr. Aquariol.*, **12** (4): 125-127.

BEDRIAGA, J. VON, 1883. – Beiträge zur Kenntniss der Amphibien und Reptilien der Fauna von Corsica. *Arch. Naturg.*, **1**: 124-273.

GOUX, L., 1953. – Contribution à l'étude biogéographique, écologique et biologique de l'Euprocte de Corse [*Euproctus montanus* (Savi)][Salamandridae]. *Vie et Milieu*, **4** (1): 1-36.

----- 1955. – Nouvelles observations sur la biogéographie, l'écologie et la biologie de l'Euprocte de Corse, *Euproctus montanus* (Savi)(Salamandridae). *Vie et Milieu*, **6** (3): 299-317.

HARDING, J.P., 1949. – The use of probability paper for the graphical analysis of polymodal frequency distributions. *J. mar. Biol. Ass. U.K.*, **28**: 141-153.

ROCHE, B., 1974. – *Composantes physico-chimiques des eaux courantes en Corse.* Service régional de l'aménagement des eaux de la Corse: 1-22.

----- 1975. – *Etude de la qualité des eaux de l'Acqua-Tignese.* Service régional de l'aménagement des eaux de la Corse, Etude n° 9: 1-18.

Dates de publication du journal *Alytes* (1988)

Alain DUBOIS

Laboratoire des Reptiles et Amphibiens,
Muséum National d'Histoire naturelle,
25 rue Cuvier, 75005 Paris, France

Cette liste fait suite à celle que nous avons déjà publiée (DUBOIS, 1988) pour les années 1982-1987, et a été préparée de la même manière.

Volume	Fascicule	Pages	Date figurant sur le fascicule	Date réelle de publication
6	3-4	85–152	Septembre-décembre 1987	26 mai 1988
7	1	1–44	Mars 1988	28 décembre 1988

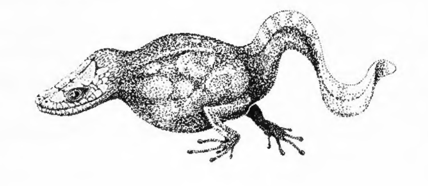
RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

DUBOIS, A., 1988. – Dates de publication du journal *Alytes* (1982-1987). *Alytes*, **6**: 116.



Alytes, 1988, 7 (2): 76.

HAVE YOU EVER SEEN A TADPOLE OF REPTILE?



No ? Then, see the next issue of this journal.



Journal International de Batrachologie
International Journal of Batrachology
édité par la Société Batrachologique de France

Recommandations aux auteurs. — *Alytes* publie des articles originaux en français ou en anglais, consacrés aux Amphibiens. Les manuscrits doivent être dactylographiés et accompagnés d'un résumé en anglais (abstract). Les articles en anglais seront suivis d'un résumé assez complet en français (pour ceux qui le souhaiteraient, les rédacteurs acceptent de revoir les résumés en français à partir d'un texte en anglais). Tableaux et figures doivent comporter un titre. Les figures, exécutées à l'encre noire, ne devront pas dépasser le format 16 × 24 cm. Indiquer leur numéro au crayon ; légendes sur feuille séparée. Présenter les références bibliographiques conformément au dernier numéro d'*Alytes* paru (les références de livres doivent comporter la pagination). Adresser les manuscrits en trois exemplaires aux rédacteurs. L'acceptation d'un article pour publication est décidée par les rédacteurs après lecture critique de celui-ci par deux lecteurs ou plus.

Instructions to authors. — *Alytes* publishes original papers in English or in French, dealing with Amphibians. Manuscripts should be typewritten, and preceded by an English abstract. Papers in English should be followed by a detailed French summary (for those who may wish so, the editors accept to revise such French summaries on the basis of an English text). Tables and figures should possess titles. Figures should be drawn in black ink and should not exceed 16 × 24 cm in size. Their numbers should be written in pencil. Figure captions should be assembled on a separate sheet. Bibliographic references should be presented as in recent issues of *Alytes* (book references should include the pagination). Send the manuscripts in triplicate to the editors (address above). Acceptance for publication will be decided by the editors following review by two referees or more.

Tirés à part. — 25 exemplaires gratuits par article. Au-delà, les tirés à part seront facturés par tranches de 25 exemplaires.



Publié avec le concours du Muséum national d'Histoire naturelle.
Directeur de la Publication : Alain DUBOIS.
Numéro de Commission Paritaire : 64851.

Alytes, 1988, 7 (2): 45-76.

Sommaire

Imprimerie Fotek, St.-Niklaas, Belgique.
Dépôt légal: 1er trimestre 1989.